

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



09/587574

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

RECEIVED

Aktenzeichen:

198 40 875.7

OCT 17 2000

Anmeldetag:

1. September 1998

OFFICE OF PETITIONS
DEPUTY A/C PATENTS

Anmelder/Inhaber:

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin,
Berlin/DE

Bezeichnung:

Mittel zur Diagnose und zur Therapie von
Tumorerkrankungen

Priorität:

02.09.1997 DE 197 38 205.3

IPC:

C 07 K, A 61 K, C 07 H

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 8. August 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Seiler



09/587574

Mittel zur Diagnose und zur Therapie von Tumorerkrankungen

Beschreibung

Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung. Sie betrifft im einzelnen ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, und darauf aufbauend ein Mittel zur Therapie. Sie betrifft ferner das neue Protein Conductin, seine Mutanten und Varianten sowie Teile davon, die dazu analogen cDNA-Sequenzen und deren Verwendung in gentherapeutischen und pharmakologischen Verfahren. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

15 Cadherine und Catenine bilden Zelladhäsionskomplexe, die in zahlreichen Geweben für die Anheftung der Zellen aneinander verantwortlich sind. Die Cadherine sind Transmembranproteine und stellen den direkten Kontakt zwischen benachbarten Zellen her. - α , β - und γ -Catenin sind zytoplasmatische Komponenten, die die Cadherine mit dem Aktin-Zytoskelett verbinden. Neben der Funktion bei der Zelladhäsion haben Catenine auch eine entscheidende Rolle bei Signaltransduktionsprozessen. β -Catenin in Vertebraten und das homologe Segmentpolaritäts-Genprodukt Armadillo in Drosophila werden durch den Wnt/Wingless-Signalweg stabilisiert (Nusse, R., Cell 89, 321-323, 1997). Dies führt zu einer Erhöhung der zytoplasmatischen, nicht an Cadherin gebundenen Fraktion dieser Proteine, die daraufhin mit HMG-Transkriptionsfaktoren der LEF-1/TCF-Familie wechselwirken können. Als Resultat wird β -Catenin/Armadillo in den Zellkern transportiert, wo es zusammen mit den LEF/TCF-Proteinen an DNA bindet und bestimmte Gene aktiviert (Behrens, J. et. al., Nature 382, 638-642, 1996).

Dieser Signalweg spielt auch eine Rolle bei der Tumorentstehung. In Kolonepithelzellen wird der zytoplasmatische Pool von β -

B 0 1 0 9 9 9

2

Catenin durch das Tumorsuppressor-Genprodukt APC (Adenomatosis Polyposis Coli) streng reguliert. Mutationen von APC, wie sie in etwa 80% aller Kolonkarzinome auftreten, führen zu verkürzten Formen des APC Proteins, die nicht mehr in der Lage sind β -Catenin zu destabilisieren. Dadurch findet man in diesen Tumoren permanente Komplexe von β -Catenin mit dem HMG-Transkriptionsfaktor TCF-4, welche für die Transformation der Zellen verantwortlich gemacht werden. Diese Theorie wird gestützt durch den kürzlichen Befund, daß in Tumoren, in denen APC nicht verändert ist, Mutationen von β -Catenin auftreten. Diese führen ebenfalls zur zytoplasmatischen Stabilisierung von β -Catenin und zur Assoziation mit LEF-1/TCF-Faktoren (Morin, P.J. et. al., Science 275, 1787-1790).

A Die Erfindung hat das Ziel, einen neuen Weg zur Verhinderung der Tumorentstehung zu finden. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von β -Catenin in Körperzellen zu entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an β -Catenin bindet und zu dessen zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet.

Die Erfindung beruht nun auf der eigenen Erkenntnis, daß Conductin über eine β -Catenin-Bindungsdomäne an β -Catenin, über eine GSK 3 β -Bindungsdomäne an GSK 3 β und über eine sogenannte RGS-Domäne (Regulator of G-Protein Signalling) an APC-Fragmente bindet. Dadurch kommt es zum zytoplasmatischen Abbau von β -Catenin und in Vertebraten zur Blockade des Wnt/Wingless-Signalwegs. Damit ist klar, daß Conductin ein wichtiger Regulator der β -Catenin-Funktion ist und im Zusammenspiel mit APC zur Tumorsuppression beiträgt.

Davon abgeleitet betrifft die Erfindung ein Mittel zur Diagnose von Tumorerkrankungen, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß das Vorhandensein und die Menge von Conductin, seiner Mutanten und Varianten oder seiner Teile in Körperzellen nachgewiesen

B 0 1 0 9 3 8 1

3

wird. Dieser Nachweis kann auf der Proteinebene mit spezifischen Antikörpern durchgeführt werden, speziell mit monoklonalen Antikörpern.

Die Diagnose von Tumorerkrankungen kann gemäß der Erfindung auch auf der Genebene erfolgen. Dazu werden mit ausgewählten Primern und cDNA-Sonden, die aus der Gensequenz des Conductins abgeleitet sind,

- das Gen, das für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodiert, bzw.
- mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen.

Das erfindungsgemäße Mittel zur Therapie von Tumorerkrankungen enthält Substanzen, die die Wirkung des Conductins im Körper aktivieren/reaktivieren. Das sind vor allem Mittel, die den Genpromoter des Conductins aktivieren bzw. Mittel, die die Stabilität der von den Conductin-Genen abgeleiteten m-RNA-Sequenzen erhöht. Das Hauptziel aller dieser Mittel besteht erfindungsgemäß darin, die Aktivität des Conductins in den Körperzellen zu erhöhen. Dazu kommen u. a. kleinmolekulare Substanzen in Betracht, die z. B. durch High-Througput-Number-Screening gefunden werden.

Die Erfindung umfaßt auch gentherapeutische Mittel, enthaltend Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw. mRNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden.

Unter Schutz gestellt wird ferner das neue Protein Conductin gemäß Abb. 1 - SEQ ID No. 1, seine Mutanten und Varianten sowie Teile davon. Besonders bevorzugte Teilsequenzen sind die Aminosäuren 78-200 (RGS) - SEQ ID No. 2, 343-396 (GSK 3 β -Bindungsdomäne) - SEQ ID. No. 3, 397-465 (β -Catenin-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 4 und 783-833 (Dishevelled Homologie-Region) - SEQ ID No. 5. Zum Schutzzumfang gehören auch Teilsequenzen des Adenomatosis Poliposis Coli (APC),

B 0 1 0 9 9 8

4

gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domänen-Interaktionsorte.

Gleichermaßen beansprucht werden die analogen cDNA-Sequenzen, insbesondere die volle cDNA-Sequenz des Conductins (Basenpaare 1-2825) gemäß Abb. 2 - SEQ ID No. 6 sowie die Teilsequenzen des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) - SEQ ID No. 7, der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 3 β -Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 8, 1403-1609 (Genabschnitt der β -Catenin-Bindungsdomäne) - SEQ ID No. 9 und der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) - SEQ ID No. 10.

Die Erfindung wird durch die folgenden Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Conductin wurde durch einen Hefe 2-Hybrid Screen als β -Catenin-Interaktionspartner identifiziert. Die vollständige cDNA-Sequenz wurde daraufhin isoliert und sequenziert. Die abgeleitete Aminosäuresequenz von Conductin ist in Abb. 1 gezeigt, die Nukleotidsequenz in Abb. 2 und die Gegenüberstellung von Aminosäure- und Nukleotidsequenz in Abb. 3. Conductin besteht aus 840 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 92,8 kDa. Durch Sequenzvergleiche wurde im Conductin eine RGS-Domäne (Aminosäuren 78-200) und eine zu dem Protein Dishevelled verwandte Domäne (Aminosäuren 783-833, Dishevelled Homologie-Region) identifiziert (Abb. 1-3). Die GSK 3 β - und β -Catenin-Bindungsdomänen (Aminosäuren 343-396 bzw. 397-465) wurden durch Interaktionsstudien im 2-Hybrid-System entdeckt (Abb. 4). Es zeigte sich, daß diese Domänen ausreichend und notwendig für die Bindung an GSK 3 β bzw. β -Catenin sind (Abb. 4), wohingegen die RGS- und Dishevelled Homologie-Region nicht beteiligt sind. Die Wechselwirkung von Conductin mit GSK 3 β bzw. β -Catenin wurde auch in Co-Immunpräzipitationsexperimenten biochemisch bewiesen.

Die Wirkung von Conductin auf β -Catenin wurde in SW480 Zellen untersucht. In diesen Zellen ist das Tumor-Suppressor-Genprodukt

B 0 1 0 9 9 6

5

APC mutiert, wodurch es zu einem Anstieg des cytoplasmatischen und vor allem nukleären Gehalts von β -Catenin kommt. Die Einbringung von Conductin in diese Zellen führt zu einem drastischen Abbau von β -Catenin, wodurch die Zelle von cytoplasmatischem und im Zellkern befindlichen β -Catenin depletiert wird (Abb. 4). Diese Wirkung auf den Gehalt von β -Catenin ist gleich stark wie die von nichtmutiertem APC, woraus geschlossen werden kann, daß Conductin ebenfalls als Tumorsuppressor durch Regulation von β -Catenin wirkt. Es wurde außerdem gezeigt, daß Conductin den Wnt/Wingless-Signalweg auch in *Xenopus*-Embryonen durch seine Wirkung auf β -Catenin hemmt.

Es wurde außerdem festgestellt, daß Conductin mit APC direkt interagiert. APC-Fragmente von Aminosäure 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 wurden als Interaktionsstellen für Conductin identifiziert. In Conductin erfolgt die Bindung an APC über die RGS-Domäne; dieser Bereich ist ausreichend und notwendig für die Interaktion. Die anderen Domänen in Conductin sind nicht beteiligt (Abb. 4).

B 0 1 0 9 0 0

Legende zu den Abbildungen:**Abb. 1****Aminosäuresequenz von Conductin**

Die Conductin cDNA kodiert ein Protein von 840 Aminosäuren mit einem berechneten Molekulargewicht von 92,8 kDa. Die RGS-Domäne (doppelt unterstrichen); die β -Catenin-Bindungsdomäne (einfach unterstrichen) und die Dishevelled Homologie-Region sind durch Fettdruck hervorgehoben.

Abb. 2**Nukleotidsequenz von Conductin von Position 1-2825**

Die Sequenzbereiche sind analog zu Abb.1 markiert.

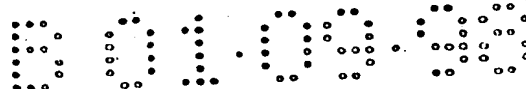
Abb. 3**Gegenüberstellung von Aminosäure- und Nukleotidsequenz von Conductin****Abb. 4****Analyse der Interaktion von Conductin und seinen Teilen mit β -Catenin, APC und GSK 3 β**

Das Conductin Protein und abgeleitete Teilstücke sind schematisch dargestellt. Hervorgehoben sind die RGS-Domäne (RGS), die GSK 3 β -Bindungsdomäne (GSK BD) und die β -Catenin-Bindungsstelle (β -BD). Die Interaktion mit β -Catenin mit den APC Fragmenten von Aminosäure 1464-1604 (APCfr.1) und 1516-1595 (APCfr. 2) und GSK 3 β wurde im Hefe 2-Hybrid Assay untersucht und als β -Galaktosidase Einheiten quantifiziert. Man erkennt, daß die Bindung an β -Catenin auf die β -Catenin-Bindungsstelle beschränkt ist, die anderen Teile des Proteins tragen dazu nicht bei. Die Analyse zeigt außerdem die ausschließliche Interaktion von APC mit der RGS-Domäne von Conductin. Vergleichbare Ergebnisse für die Bindung an die RGS-Domäne wurden mit APC Fragmenten von Aminosäure 1690-1778 und 1995-2083 erhalten. Der

B 01 09 98

7

Abbau von β -Catenin in SW480 Zellen durch Conductin wurde nach transienter Expression der angegebenen Proteine und Immunfluoreszenz-Färbung von β -Catenin analysiert. Nur Teilstücke von Conductin, die an β -Catenin binden, führen zu dessen Abbau. Die Analyse zeigt schließlich die Bindung von GSK 3 β an die GSK 3 β -Bindungsdomäne von Conductin.



Patentansprüche

1. Mittel zur Diagnose von Tumoren, enthaltend eine Substanz, mit der
 - Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon bzw.
 - Gene, die für Conductin, seine Mutanten und Varianten oder Teile davon kodieren, bzw.
 - m-RNA-Sequenzen, die von diesen Genen abgelesen werden, nachgewiesen werden.
2. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend spezifische Antikörper gegen Conductin, seine Varianten oder Mutanten oder Teile davon.
3. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die spezifischen Antikörper monoklonale Antikörper sind.
4. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der Gene und deren Mutationen.
5. Mittel zur Diagnose von Tumoren nach Anspruch 1, enthaltend korrespondierende Oligonukleotid-Primer bzw. DNA-Sonden zum Nachweis der RNA-Sequenzen.
6. Mittel zur Therapie von Tumoren, enthaltend eine Substanz, die die Wirkung des Conductins im Körper aktiviert/reaktiviert.
7. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die den Genpromoter des Conductins aktiviert.
8. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Stabilität der mRNA-Sequenzen erhöht.
9. Mittel nach Anspruch 6, enthaltend eine Substanz, die die Aktivität des Conductins erhöht.

B 01 09 98

10. Conductin, seine Varianten und Mutanten sowie Teile davon.

11. Conductin nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 1-840 gemäß Abb. 1 (SEQ ID No. 1), wobei Abb. 1 Bestandteil dieses Anspruchs ist.

12. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 78-200 (RGS-Domäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 2).

13. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 343-396 (GSK 3 β) der Abb. 1 (SEQ ID No. 3).

14. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 397-465 (β -Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 1 (SEQ ID No. 4).

15. Teilsequenz des Conductins nach Anspruch 10, gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenz 783-833 (Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 1 (SEQ ID No 5).

16. Teilsequenzen des Adenomatosis Poliposis Coli (APC), gekennzeichnet durch die Aminosäuresequenzen 1464-1604, 1516-1595, 1690-1778 und 1995-2083 als RGS-Domänen-Interaktionsorte.

17. cDNA-Sequenz von Conductin, seiner Varianten oder Mutanten oder Teilen davon.

18. cDNA-Sequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1-2825 der Abb. 2 (SEQ ID No. 6), wobei Abb. 2 Bestandteil dieses Anspruchs ist.

19. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 446-814 (RGS-Genabschnitt) der Abb. 2 (SEQ ID No. 7).

B 01 09 98

10

20. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1241-1402 (Genabschnitt der GSK 3 β -Bindungsdomäne) der Abb. 2 (SEQ ID No. 8).

21. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 1403-1609 (Genabschnitt der β -Catenin-Bindungsdomäne) der Abb. 2 (SEQ ID No. 9).

22. cDNA-Teilsequenz des Conductins der Nukleotidfolge 2561-2713 (Genabschnitt der Dishevelled Homologie-Region) der Abb. 2 (SEQ ID No. 10).

23. Verwendung des Conductin-Gens für die Gentherapie von Tumorerkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß ein Vektor mit dem Conductin-Gen konstruiert wird, anschließend ein Gentransfer in den menschlichen Körper erfolgt und damit die Aktivität des Conductins in Körperzellen wiederhergestellt wird.

B 01 00 00 00

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft neue Wege zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch Ausnutzung molekularbiologischer Zusammenhänge bei der Tumorentstehung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Kontrolle der Regulation von β -Catenin in Körperzellen zu entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein neues Protein, welches an β -Catenin bindet und zu dessen zytoplasmatischen Abbau führt. Dieses Protein hat die Aminosäuresequenz gemäß Abb. 1 und wurde als CONDUCTIN bezeichnet.

Vom Vorkommen und der Wirkung des Conductins in Körperzellen abgeleitet werden Mittel zur Diagnose und zur Therapie von Tumorerkrankungen entwickelt.

B 01 09 98

1/5

MSSAVLVTLIPDPSSSFREDAPRPPFVPGEEGETPPCQPSVGKVQSTKMPVSSNARNED 60
GLGEPEGRASPDSPLTRWTKSLHSLLDGDQDGAYLFTFLEREKCVDTLDFWFACNGFEROM 120
NLKDTKTLRVAKAIYKRYIENNSVVSQKLPATKTYIRDGIKKQQIGSVMDQAQTEIQA 180
VMEENAYQVFLTSDIYLEYVRS GGENTAYMSNGGLGSLKVLCGYLPTLNEEEEWTCADLK 240
CKLSPTVVGLSSKTLRATASVRSTETAENGFRSEKRS DPVNPHYHVGSGYVFA PATSANDS 300
ELSSDALTD DSMSMTDSSVDGVPPYRMGSKQLQREMHRSVKANGQVSLPHFPRT HRLPK 360
EMTPVEPAFAFAELISRLEKLELESRSLSLEERLQOTREDEEKEGSEQALS SRDGA FVO 420
HPLALLPSGSYEEDPQTILDDHLSRVLKTPGCQSPGVGRYS PRSRSPDHHHQHHHQCH 480
TLLSTGGKLPVAAACPLLGGKSFLTQTTKHVHHYIHHHAVPKTKEEIEAEATQVRCL 540
CPGGTDYYCYSKCKSHPKAPEPLPGEQFCGSRGGTLPKRNAKGTEPGLALSARDGGMSSA 600
AGGPQLPGEEDRSQDVWQWMLSESRQSKSKPHSAQSIRKSYPLESARAAPGERVSRHHL 660
LGASGHSRSVARAHFPTQDPAMPPLTPPNTLAQLEECRR LAEVSKPQKQRC CVASQORD 720
PNHSAAGQAGASPFANFSLAPEDHKEPKKLASVHALQASELVVITYFFCGEEIPYR PMLKA 780
QSLTLGHFKEQLSKKGNRYRYFFKKASDEFACGAVFEEIWDDET VLP MYEGRILCKVERID 840

0010990

2/5

CAGCTGTTCTGATGATTTCGGGGACACCCGGAGGCCAGGCGTCCGCTCCCAAGG 60
ACAGCTTTCTGTATAAGAGAGAGGAGGCTCACATCAGCCCTGCTGACTTAAGAGAGACCA 120
ACCCGATTCCTGAGAGGAACTGGAAGAGAAAAAGGAGGAGGGAAGAAAAAGCAAAAC 180
AAATCCAAATTCAGTGAAGAGGCTCTCCCTCACCATGAGTAGCGCCGTGTTAGTACTCT 240
TCTTCAATTCACAGCAGGAGCTTCGCGAGGATGCTCCGCGGCCCGCTTCGCGGAGA 300
AGAGCGGGAGAGCTCAGCTGTCTCAGCTAGTGTGGGCAAGGTCCAGTCCAGCAACCTAT 360
TCTGCTTTCTCTATGCTAGCGGATGAAGATGGAGTGGGGAGCCCGAGGGGCGGCG 420
CTTCCGCTTTCTCTTTTACCAAGTGGACCAAGTCTTTACACTCCTTGTGGGTGACCA 480
CGATGGTGCATACCTCTTCCGGACTTTCCTGGAGAGGAGAAATGTGTGATACGCTGGA 540
CTTCTGGTTTTCCTTGTAAATGGGTTTACGGCAGATGAACCTGAAGGATACCAAACTTTGGG 600
AGTGGCCAAAGCAATCTATAAGAGGTACATTGAGAACAAACAGCGTTGTCTCCAGCAGCT 660
GAAGCCCGCCACCAAGACCTACATACGAGATGGCATCAAGAAGCAACAGATCGGCTCGGT 720
CATGTTTGACCAGGCACAGACCGAGATCCAGGCAGTGTGAGGAAATGCTTACCAGGT 780
GTTCTTGACTTCTGACATTTACCTGGAATATGTGAGGAGTGGGGGGGAAACACAGCTTA 840
TATGAGTACGGGGGAGCTGGGGAGGCTTAAGGTCTTATGTGGCTACCTCCCGACCTTGA 900
TATGAGAGAGAGTGTGAGCTGTGCTGAGCTCAAGTGCAGACTCTACCCAGCTGGGTTGG 960
CTTGTCCAGCAAACTCTTCCGGCCACCGCGAGTGTGAGATCCACGGAAACAGCTGAAGA 1020
CGGATTCAGCTCTTCAAGAGAGCGGACCGAGTCAATCTTATCAGCTAGGTTCTGGCTA 1080
TGTCTTTGCACCGACCGACCGCGGCAACGACAGCGAGTATCCAGCGACGCACTGACCGA 1140
CGATTCAGTGTCTGAGAGGAGAGTACCGTAGATGGAGTCCCTCTTACCGATGGGGAG 1200
TAAGAAACAGCTCCAGAGAGAGATGCATCGCAGTGTGAAGGCCAATGGCCAAAGTGTCT 1260
ACCTCAATTTCCGAGAACCCACCGCTGCCCAAGGAGATGACGCTGTGGAACCTGCTGC 1320
CTTCCGCGCGGAGCTCATCTCCAGGCTGGAGAACTGAAGTCCAGCTGGAAAGCCGCCA 1380
TAGTCTGGAGGAGCGGCTGCAGCAGATCCGGGAGGATGAAGAAAGGAGGGGTCTGAGCA 1440
GGCCCTGAGCTCAGCGGATCCAGCACCGGTCCAGCACCCCTGCCCTCTTACCTCCGG 1500
CAGCTATGAAGAGGACCCACAAACCAATTTGGACGAGCACCTCTCCAGGCTCCTCAAGAC 1560
CCCCGCTGTCAATCCCTGCTGTGGGTGCTACAGCCCAAGGTCCCGCTCCCGCGACCA 1620
TCACCCAGCAGCACCCACCATTCAGCAGTGTCTATCCCTTCTTTGAGCTGGGGCAAGCT 1680
GGCCCGCTGTGGCTGCTTGGCCCTCTTGGAGGCAAGAGCTTCTGACCAACAGACGAC 1740
TACCCAGCTTACACCACTAGATCCACCCACCGCCCTCCCAAGACCAAGGAGGAGAT 1800
TACCCAGAGAGGCAACAGAGAGTCCCTGCTCTGTCTGGGGGAACAGATTATTATTG 1860
TACTCCAAATGCAAAAGCAACCGAGGCTCCAGAGCCCTGCTGGGGAGCAGTTTGT 1920
TGGCAGCAGAGGTGTTACCTTGCCTAAACGCAATGCAAGGGCACCGAACCGGTCTTGC 1980
TCTGTCTTCCAGGATGGAGGATGTCTAGTGCAGCGGGGGGCTCCAGCTTCTTGGGA 2040
AGAGGAGAGCGGTCACAGGATGTCTGGCAGTGGATGTGGAGAGTGAGCGGCAAGCA 2100
GTCCAGCGCCCATAGTGCCTAAAGCATAGAAAGAGCTACCCATTGAGTCTGCCCGTGC 2160
TGGCCCAAGAGAGAGTACAGCCGACCATCTGTGGGGGCGAGCGGCACTTCCGCTC 2220
TGTGCTTCCGCTACCCATTTACCCAGGACCTTGCAATGCCTTCCCTTACCCCAACCA 2280
CCTTTTGGCAGCTAGAGGAAGCTTGGCGAGGCTGGCAGAGGTGTGGAAGCCCAAGAA 2340
TACCGGCTGTGGTGGGCTAGTCAGCGAGGAGACAGGAACCACTCGGCTGCTGTACGGC 2400
TACGAGCTTCACTTCCCAACCTTACGCTGGCTCCAGAGATCACAAAGAGCCAAAGAA 2460
ACTGTCAAGGTTCAGCGCTCCAGGCGAGTGAAGTGGTGTCACTTCTTTCTGTGG 2520
AGAGGAAATTCATACAGGAGGATGCTGAGGCTTAAAGCTTGACCTGGGGCACTTCAA 2580
GGAGCAGCTCAGCAAAAGGAAATTACAGGTATTATTCAAGAAGCGAGTGACGAATT 2640
TGCTTGGCGAGCAGTTTGTGAGGAGATCTGGGAGCAGCAGAGTGTCTCCCATGTACGA 2700
AGGCAGGATCTTGGGCAATGTGGAGAGGATCGACTGAGCCTTGGCTTCTCGGCGTCAA 2760
TCTGGCAAGCACTTGGCTGTCACTATGGAGCCGAGCCACAGACCTGTCTCAGGCC 2820

B 01 09 98

3/5

215 AGG AGT AGC GGC GTG TTA GTG ACT CTC CTT CCA GAT CCC AGC AGC AGC TTC CGC
1 M S S A V L V T L L P E P S S S F R

GAG GAT GGT GGC GGC GGC GGT GGT GGA GAA GAA GGG GAG AGC GGA GAG TGT CAG CCT
E D A P P P P V P G E E S E T P P C Q P

AGT GTG GGA AGC GTC GTC TGC AAC AAA GGT ATG GGT GGT TGC TGT AAT GGT AGC GGC AAT
P V G Y V C S T K P M P V S S N A P R N

GAG GAT GGA GTC GGC GAG GGC GAG GGT GGC GGC TGC GGC GAT TGC GGT TGC AGC AGC TGC
E D G L G E F E G E A S P D S P L T R W

AGG GAT GGT GTC GGC GGC GGC GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT GGT
P E S L M S L L G D Q D G A Y L P R T F

GTG GAT AAT GAG AAA TGT GTC GAT AGC GTG GAG TTC TGG TTT GGT TGT AAT GGC TTC AGC
E E E E E V D T L D F W F A C N G F E

GAG AGT AAT TTT GAG GAT ACC AAA ACT TTT CGA GTG GGC AAA GCA ATC TAT AAG AGG TAC
Q M N L F D T K T L R V A K A I Y K R Y

ATT GAG GAT AGC GGT GGT GTC TGC AAG CAG CTG AAG GGT GGC AGC AAG AGC TAC AAT GAT
I E N N S V V S K Q L K F A T K T Y I E

GAT GGC ATC AAG AAG GAA CAG ATC GGC TGC GTC ATG TTT GAG CAG GCA CAG ACC GAG ATC
D G I K K D Q I G S V M F D Q A Q T E I

GAG GGA GTC ATC GAG GAA AAT GGC TAC CAG GTG TTC TTG ACT TCT GAC ATT TAC CTG GAT
A A V M E E N A Y Q V F L T S D I Y L E

TAT GTG AGG AGT AGC GGC GGA AAT AAC ACA GGT TAC ATG AGT AAC GGC GGA GTG GGC AGC CTA
Y V F S E G E N T A Y M S N G G L G S L

GAG GTC GGA GGT GGT GGC TAC CTC GGC ACC TTG AAT GAA GAA GAG GAG TGG AGC TGT GGC GAC
E V L C S V L P T L N E E E E W T C A D

TTC AAG TGC AAT GTC TCA GGC ACC GTG GGT GGC TTG TCC AGC AAA ACT CTT GGC GGC ACC
L K I H L E P T V V G L S S K T L E A T

GTC AAT GTG AGC TGC AGC GAA ACA GGT GAA AAC GGA TTC AGG TCC TTC AAG AGA AGC GAC
A S V P S T E T A E N G F P S F K R S D

GGA GTC AAT GGT TAT GAT GGA GGT TCC GGC TAT GTC TTT GCA CCA GGC ACC AGC GGC AAT
P V H P Y H V G S G Y V F A P A T S A N

GAG AGC GAT TTA TCC AGC GAC GCA CTG ACC GAC GAT TCC ATG TCC ATG AGC GAC AGT AGC
E C E L E S D A L T D D S M S M T D S S

ATA GAT GGA GTC GGT TGT TAC GGC ATG GGC AGT AAG AAA CAG CTC CAG AGA GAG ATG GAT
V D S V P P Y R M G S K K Q L Q R E M H

GTC AGT GTG AAG GGC AAT GGC CAA GTG TCT CTA CCT CAT TGT CCG AGA ACC CAC GGC CTG
P C K A N G Q V S L P H F P R T H R L

AGG GAG GAT AGT AGC GGT GTG GAA CCT GGT GGC TTC GGC GGC GAG CTC ATC TCC AGG CTG
L K E M E P E P A A F A A E L I S E L

GAG AAT GTG AAT GTG GAG GTG GAA ACC GGC CAT ACT CTC GAG GAG GGC CTC CAG CAG ATC
E A L K L E L E S R H S L E E R L Q Q I

GGC GAG GAT GAA GAA AAG GAG GGC TCT GAG CAG GGC CTC AGC TCA LGG GAT GGA GCA GGC
R E D E E K E G S E O A L S S R D G A P

GTG GGC CAC GGC GTG GGC CTC CTA GGC TCC GGC AGC TAT GAA GAG GAC CCA CAA ACC ATT
M O H P L A L L P S G S Y E E D P O T I

TTG GAC GAC GAC GTC TCC AGG GTC CTC AAG ACC GGC GGC TGT CAA TCC GGT GGT GGT GGT
L D D H L S E V L K T P G C Q S P G V G

B 0 1 0 9 9 9

4/5

GGC TAC AAG AGA GGG TCC GGC TCC CTC GAC CAC CAC CAC CAG CAC CAC CAC CAT CAG CAG
E V S P P S P S P D H H H Q H H H H O Q

TTT CAT ACC GTT TTT TCC ACT GGC GGC AAG CTG CCG CCC CTC GGT GGT TCC CCC CTC CTT
C H C L L S T G G K L P P V A A C P L L

AGA GTT AAG AGC GTT CTC AAG AGA CAG ACG ACG AAG CAC GTT CAC CAC CAC TAC ATC CAC
G H H S F L T F Q T T K H V H H H Y I H

AAA AA GTT TTT TTT AAG ACT AAG CAG AAG ATC GAG GAA GAA TTC ACT CAG AAG CTC CCG
H H K V F K T Y E E I E A E A T Q R V P

TTC GTT TTT TTT TTT GAA AAG GAT TAT TAT TGC TAC TCC AAA TGC AAA AGC CAC CCG AAG
P L C F G G T F Y Y C Y S K C K S H P K

GGT CCA GAT AAG CTC CTT GGC AAG CAG TTT TGT GGC AGC AAG GGT GGT ACC TTG CCA AAA
A F E F L F G E O F C G S R G C T L P F

CGT AAT GCA AAG GGC ACC GAA CCG GGT CTT GCA CTG TCG CCC AGG GAT GGA GGG ATG TCC
P H P K G T E P G L A L S A P D G G M S

AGT GCA TCG GGC GGC CCG AAG CTT CTT GGC GAA GAA GCA GAC CCG TCA CAG GAT GTC TGG
S A L G G P Q L P G E E G D R S Q D V W

CAG TCG AAG CTC CAG AAT GAG GGC CAG AAG TCC AAG CTC CAT AGT ACC CAA AGC ATA
Q M M L E S E P Q S K S K P H S A Q S I

AGA AAG AGC TAC CCA CTC GAG TCT GGC CGT GGC CCA GGA GAA CGA GTC AGC CCG CAC
R K S V P L E S A R A A P G E R V S R H

CAT CTC TTT GGC GGC AAG GCA CAC TCC CCG TCA GTG GGC CCG GGT CAC CCA TTT ACC CAG
H L L E A S G H S R S V P R A H P F T Q

GAC CTT GCA ATG CTT ACC CTT ACC CCA CCC AAG ACT TTT GCA CAG CTA CAG GAA GCC TGC
D E A M P P L T P P N T L A Q L E E A C

GGC AAG CTC GCA CAG GTG TCG AAG CCC CAG AAG CAG CCG TGC TGC GTG GCC AGT CAG CAG
P F L A E V S K P Q K Q R C C V A S Q Q

AAG GAC AAG AAG CAC TCC GGT CTT GGT CAG GCA GGA GCC TCA CCC TTC GCC AAG CCA AGC
R D P N H S A A G Q A G A S P F A N P S

CTG CTT GCA GAA TAT CAC AAG CAG CCA AAG AAA CTG GCA AGT GTC CAC GCG CTC CAG GCC
L A F E D H K E P K K L A S V H A L Q R

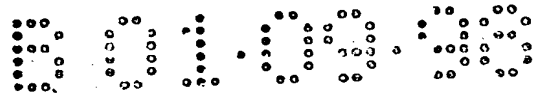
AGT GAG ATG GGT GTC ACC TAC TTT TTC TGT GGA GAA GAA ATT CCA TAC AGG AGG ATG CTG
E E L V V T Y F F C G E E I P Y R R M L

AAG CTT GCA AGC TTG ACC CTG GGC CAC TTC AAG GAG CAG CTC AGC AAA AAG GGA AAT TAC
H A C S L T L G H P K E Q L S K K G N Y

AAA TAT TTT TTT AAG AAG GGC AGT GAC GAA TTT GGC TTT GGA GAA GTT TTT GAG GAG ATC
H V T F K K A S D E F A C G A V F E E I

TTC GAC AAG GAG AAG CTC CTC CCG ATG TAC GAA GGC AAG ATC CTC GGT AAA GTG GAG AAG
V F C E T V L P M Y E G F I L G K V E R

ATG GAA GAA AAG
I E RRP

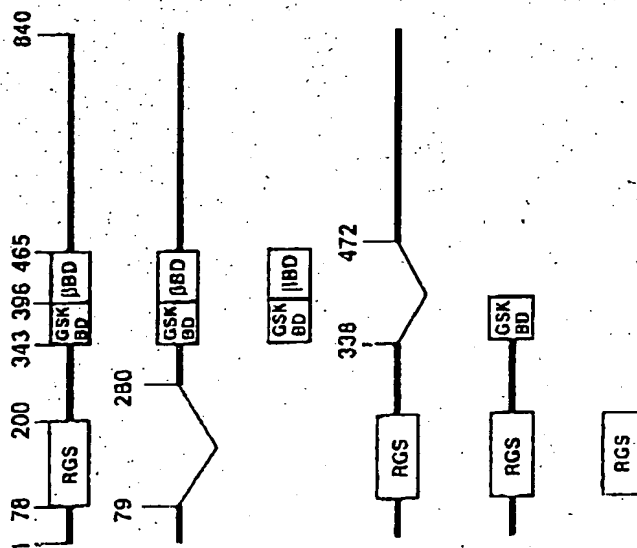


5/5

Abbau von β -Catenin
in SW480 Zellen

Interaktion mit

β -Catenin APC #1 APC #2 GSK3 β



ja

ja

nein

nein

nein

nein

18

6

9

GSK3 β

APC #2

APC #1

220

n.d.

0

0

490

670

0

0

1060

0

260

190

0

84

250

110

0

0

390

390

0

Abb. 4